



# 八种新烟碱类杀虫剂对地熊蜂工蜂的 毒性及风险评估

王 烁<sup>1,2</sup>, 谢丽霞<sup>1</sup>, 陈 浩<sup>2</sup>, 吴光安<sup>2</sup>, 周 浩<sup>2</sup>, 王 瑜<sup>2</sup>,  
于 毅<sup>2</sup>, 郑 礼<sup>2</sup>, 翟一凡<sup>2,\*</sup>, 闫 毅<sup>1,\*</sup>

(1. 山东农业大学植物保护学院昆虫学系, 山东泰安 271000; 2. 山东省农业科学院植物保护研究所, 济南 250100)

**摘要:**【目的】评价新烟碱类杀虫剂对地熊蜂 *Bombus terrestris* 工蜂的毒性和生态风险性, 为温室施用新烟碱类杀虫剂提供科学依据。【方法】分别采用饲喂法和接触法测定了噻虫嗪、噻虫胺、啉虫脒、吡虫啉、烯啶虫胺、呋虫胺、噻虫啉和氟吡呋喃酮 8 种新烟碱类杀虫剂对地熊蜂成年工蜂的急性经口和急性接触毒性。同时评估了 8 种新烟碱类杀虫剂对地熊蜂工蜂的生态风险性。【结果】8 种杀虫剂经饲喂法测定, 噻虫胺对地熊蜂成年工蜂的毒性最高, 24 h 和 48 h 的  $LD_{50}$  值分别为 0.0433 和 0.0330  $\mu\text{g a.i./蜂}$ ; 氟吡呋喃酮毒性最低, 24 h 和 48 h 的  $LD_{50}$  值分别为 72.4119 和 67.9079  $\mu\text{g a.i./蜂}$ 。接触法测定的毒性与饲喂法测得的结果一致, 噻虫胺的毒性最高, 24 h 和 48 h 的  $LD_{50}$  值分别为 0.0220 和 0.0192  $\mu\text{g a.i./蜂}$ ; 氟吡呋喃酮的毒性最低, 24 h 和 48 h 的  $LD_{50}$  值分别为 141.7641 和 130.3062  $\mu\text{g a.i./蜂}$ 。生态风险评估表明, 啉虫脒、噻虫啉和氟吡呋喃酮对地熊蜂成年工蜂的经口毒性和接触毒性均表现为低风险, 吡虫啉、烯啶虫胺和呋虫胺的毒性表现为中等风险。噻虫嗪和噻虫胺对地熊蜂成年工蜂的经口毒性表现为中等风险, 而接触毒性则表现为高风险。【结论】检测的 8 种新烟碱类杀虫剂中啉虫脒、噻虫啉与氟吡呋喃酮对地熊蜂成年工蜂的毒性为低毒, 而噻虫嗪、噻虫胺、吡虫啉、烯啶虫胺、呋虫胺这 5 种杀虫剂均为高毒。在设施蔬菜花期使用地熊蜂授粉时, 建议禁用这 5 种中、高风险的新烟碱类杀虫剂, 以避免对熊蜂授粉的危害, 而另 3 种低风险药剂可根据田间试验情况合理施用。

**关键词:** 地熊蜂; 新烟碱类杀虫剂; 毒性; 风险评估; 设施农业

中图分类号: Q965.9 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2020)01-0029-07

## Toxicity and risk assessment of eight neonicotinoid insecticides to workers of *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apoidea)

WANG Shuo<sup>1,2</sup>, XIE Li-Xia<sup>1</sup>, CHEN Hao<sup>2</sup>, WU Guang-An<sup>2</sup>, ZHOU Hao<sup>2</sup>, WANG Yu<sup>2</sup>, YU Yi<sup>2</sup>, ZHENG Li<sup>2</sup>, ZHAI Yi-Fan<sup>2,\*</sup>, YAN Yi<sup>1,\*</sup> (1. Department of Entomology, College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271000, China; 2. Institute of Plant Protection, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China)

**Abstract:** 【Aim】 This study aims to evaluate the toxicity and ecological risk of neonicotinoid insecticides to *Bombus terrestris* workers so as to provide a scientific basis for application of neonicotinoid insecticides in greenhouse. 【Methods】 The acute oral and contact toxicities of eight neonicotinoid insecticides, including thiamethoxam, clothianidin, acetamiprid, imidacloprid, nitenpyram, dinotefuran, thiacloprid,

基金项目: 山东省重点研发计划(2019GHZ028); 泰山产业领军人才工程(LJNY201821); 山东省农业重大应用技术创新项目(SD2019ZZ001)  
作者简介: 王烁, 男, 1995 年 8 月生, 满族, 山东淄博人, 硕士研究生, 研究方向为杀虫剂对熊蜂的毒性及熊蜂授粉应用, E-mail: 1187133774@qq.com

\* 通讯作者 Corresponding authors, E-mail: ziyfan@tom.com; miteyy@163.com

收稿日期 Received: 2019-08-14; 接受日期 Accepted: 2019-11-11

and flupyradifurone, to adult workers of *B. terrestris* were tested by feeding and contact methods, respectively, and the ecological risk of these neonicotinoid insecticides to *B. terrestris* was assessed. 【Results】 Clothianidin showed the highest toxicity to adult workers of *B. terrestris* by acute oral exposure, with the LD<sub>50</sub> values of 0.0433 and 0.0330 μg a. i./bee at 24 and 48 h after exposure, respectively, while fluorofuranone showed the lowest toxicity, with the LD<sub>50</sub> values of 72.4119 and 67.9079 μg a. i./bee at 24 and 48 h after exposure, respectively. The toxicities of the eight insecticides determined by acute contact were similar to those determined by acute oral exposure. Clothianidin showed the highest acute contact toxicity to adult workers of *B. terrestris*, with the LD<sub>50</sub> values of 0.0220 and 0.0192 μg a. i./bee at 24 and 48 h after acute contact, respectively, while fluorofuranone showed the lowest toxicity, with the LD<sub>50</sub> values of 141.7641 and 130.3062 μg a. i./bee at 24 and 48 h after acute contact, respectively. Ecological risk assessment revealed that acetamiprid, thiacloprid and flupirfenone showed low risk to adult workers of *B. terrestris*, while imidacloprid, nitenpyram and dinotefuran showed moderate risk. Thiamethoxam and clothianidin showed moderate risk to adult workers of *B. terrestris* in oral toxicity, while high risk in contact toxicity. 【Conclusion】 Among the eight neonicotinoid insecticides tested, acetamiprid, thiacloprid, and flupirfenone show low toxicity to adult workers of *B. terrestris*, while the other five neonicotinoid insecticides (thiamethoxam, clothianidin, imidacloprid, nitenpyram and dinotefuran) show high toxicity. We recommend that the five neonicotinoid insecticides with high and moderate risk should be banned in order to avoid exposing bumblebees to insecticide risk, while the other three insecticides with low risk might be considered for application in the field.

**Key words:** *Bombus terrestris*; neonicotinoid insecticide; toxicity; risk assessment; facility agriculture

设施蔬菜是我国农业的主要支柱产业和农民增收的重要途径,但由于设施环境相对封闭和特殊,果类蔬菜缺乏授粉媒介,仅能人工辅助授粉。目前种植户主要采用2,4-D丁酯类激素人工喷花或蘸花,该方法耗时费工,易产生畸形果,还造成激素残留,严重影响果菜的质量安全,导致部分果菜类蔬菜产品的销售、出口受限,降低了农民的收益。随着需要授粉的作物不断增多,需要商业化授粉蜜蜂的数量也随之增多。20世纪80年代,地熊蜂在欧洲商业化生产且被用以取代高昂的机械授粉(Trillo *et al.*, 2019)。

地熊蜂 *Bombus terrestris* 属于膜翅目(Hymenoptera)蜜蜂总科(Apoidea)熊蜂属 *Bombus*。地熊蜂应用范围广泛,在全世界熊蜂种类商业化应用最为成熟,全球范围内均有应用(周浩等, 2016)。熊蜂是一类多食性社会性昆虫,是多种虫媒植物特别是豆科、茄科及一些濒危植物的重要授粉者(黄家兴等, 2007)。相较于其他传粉昆虫,熊蜂有着体型大、绒毛多、飞行速度快、适应性强、耐低温及在阴天也能授粉等优点(王欢等, 2019)。使用熊蜂授粉不但省工省力,减少劳动强度,而且可避免因使用激素所致的畸形果,防止激素残留,显著提高果菜产品的质量安全和商品性能。同时熊蜂具有对高风险化

学农药的高敏感性,常作为设施果菜种植环境的指示生物。目前,欧盟国家已普遍使用熊蜂授粉技术。随着我国消费者对安全优质农产品的需求日益提高,以及政府对农产品质量安全监管力度的加强,我国设施果菜生产过程中,使用熊蜂授粉技术的面积也在逐年扩大。

新烟碱类杀虫剂属于氯化烟酰杀虫剂,是目前最大的杀虫剂类型之一(Simon-Delso *et al.*, 2015),是继拟除虫菊酯类杀虫剂之后又一重大突破(ERSA, 2012)。其具有独特新颖的作用方式、良好的根部内吸性、高效、广谱和对环境相容性好等特点,被广泛用于防治褐飞虱和烟粉虱等刺吸式口器害虫以及部分鞘翅目和鳞翅目害虫(Tomizawa and Casida, 2003),一经上市便成为市场发展最快、销售最成功、效果最出色的一类杀虫剂。其作用靶标为乙酰胆碱受体,因昆虫的受体与哺乳动物受体存在差异,使得新烟碱类杀虫剂对昆虫毒性较高而对哺乳动物毒性较低,对人畜安全性较高(Millar and Denholm, 2007)。但由于其作用机制对蜜蜂有着较大的杀伤性,使新烟碱药剂一度陷入禁用风波之中。为保护授粉昆虫,欧盟于2018年禁止在户外使用噻虫胺、噻虫嗪和吡虫啉3种新烟碱杀虫剂(Codling *et al.*, 2018)。目前国内已对蜜蜂的生态风险性进行了系统的评估

(赵怡楠等, 2014), 但缺少新烟碱类杀虫剂对熊蜂的生态风险评估。为了明确新烟碱类杀虫剂对地熊蜂的影响, 本试验参照《化学农药环境安全评价试验准则. 第 10 部分: 蜜蜂急性毒性试验》(袁善奎等, 2014), 采用饲喂法和接触法测定新烟碱类杀虫剂对地熊蜂的毒性, 并参照欧洲和地中海植物保护组织 (EPPO, 2000) 所采用的危害熵 (hazard quotient, HQ) 值来对 8 种新烟碱类杀虫剂的生态风险性进行评估, 为温室施用新烟碱类杀虫剂提供科学依据, 通过合理的选择新烟碱类杀虫剂来减轻或避免地熊蜂在传粉时受到的伤害, 同时为我国开展新烟碱类杀虫剂对熊蜂的安全性评价提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试虫源

供试蜂种为地熊蜂工蜂, 购自山东鲁保科技开发有限公司, 于温度  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 、相对湿度  $60\% \pm 10\%$ 、黑暗条件下进行饲养, 饲养过程未接触化学农药和试剂。试验所用地熊蜂均为个体大小基本一致的健康成年工蜂。

### 1.2 供试药剂

供试药剂为 25% 噻虫嗪水分散粒剂 [先正达 (中国) 投资有限公司]、20% 噻虫胺悬浮剂 (江苏辉丰生物农业股份有限公司)、20% 啉虫脒可溶粉剂 (江苏龙灯化学有限公司)、70% 吡虫啉水分散粒剂 [拜耳作物科学 (中国) 有限公司]、20% 呋虫胺可溶粒剂 (日本三井化学 ARGO 株式会社)、10% 烯啶虫胺水剂 (浙江世佳科技有限公司)、2% 噻虫啉微囊悬浮剂 (山东国润生物农药有限责任公司)、20% 氟吡呋喃酮水剂 (拜耳作物科学有限公司)。

### 1.3 新烟碱类杀虫剂对地熊蜂的毒力测定

参考我国《化学农药环境安全评价试验准则. 第 10 部分: 蜜蜂急性毒性试验》(袁善奎等, 2014), 将农药对地熊蜂的毒性划分 4 个等级 (以有效成分计): 低毒 ( $\text{LD}_{50} > 11.0 \mu\text{g a. i. / 蜂}$ ); 中毒 ( $2.0 \mu\text{g a. i. / 蜂} < \text{LD}_{50} \leq 11.0 \mu\text{g a. i. / 蜂}$ ); 高毒 ( $0.001 \mu\text{g a. i. / 蜂} < \text{LD}_{50} \leq 2.0 \mu\text{g a. i. / 蜂}$ ); 剧毒 ( $\text{LD}_{50} \leq 0.001 \mu\text{g a. i. / 蜂}$ )。

**1.3.1 急性经口毒性:** 参照《化学农药环境安全评价试验准则. 第 10 部分: 蜜蜂急性毒性试验》(袁善奎等, 2014), 将各供试杀虫剂母液用 50% 的蔗糖水溶液稀释成 5 个浓度梯度, 按每头蜂取食  $20 \mu\text{L}$  的量在饲喂器中加入不同浓度的药剂  $200 \mu\text{L}$ , 将饥

饿处理 2 h 的成年工蜂移入蜂笼, 每个蜂笼 10 头成蜂, 每个处理重复 3 次, 并设 50% 蔗糖水为空白对照。饲喂 3 h 待药剂消耗完后添加充足 50% 蔗糖水继续饲养, 记录 24 h 和 48 h 地熊蜂工蜂死亡数, 计算地熊蜂工蜂的死亡率。

**1.3.2 急性接触毒性:** 参照《化学农药环境安全评价试验准则. 第 10 部分: 蜜蜂急性毒性试验》(袁善奎等, 2014), 用 8% 吐温-80 水溶液配制的母液稀释成 5 个浓度梯度。用微量点滴仪将不同浓度的供试药剂按每头蜂  $2 \mu\text{L}$  点滴在用  $\text{CO}_2$  麻醉后的地熊蜂工蜂的中胸背板上, 待蜂身晾干后转入蜂笼中, 用充足的 50% 蔗糖水饲喂, 每个蜂笼 10 头成蜂, 每个处理重复 3 次, 并设 8% 吐温-80 水溶液为空白对照。记录 24 h 和 48 h 地熊蜂工蜂死亡数, 计算地熊蜂工蜂的死亡率。

### 1.4 新烟碱类杀虫剂对地熊蜂工蜂的生态风险评估

新烟碱类杀虫剂对地熊蜂工蜂的生态风险评估参照欧洲和地中海植物保护组织 (EPPO, 2000) 所采用的 HQ 值。HQ 值为农药田间推荐用量 (AR) ( $\text{g a. i. / hm}^2$ ) 与农药对地熊蜂工蜂急性经口或接触  $\text{LD}_{50}$  ( $\mu\text{g a. i. / 蜂}$ ) 值的比值:  $\text{HQ} = \text{AR} / \text{LD}_{50}$ 。HQ > 2 500, 高风险;  $50 < \text{HQ} \leq 2\ 500$ , 中等风险;  $\text{HQ} \leq 50$ , 低风险。本研究分别采用饲喂法和接触法测得的 48 h 的  $\text{LD}_{50}$  计算 HQ 值, 田间推荐剂量按照已在我国农业部登记的同一有效成分田间推荐用量的最大范围来计算。

### 1.5 数据分析

利用统计软件 Probit 软件对试验内容所得数据进行统计分析, 计算得出  $\text{LD}_{50}$  和  $\text{LD}_{90}$  值 (95% 置信区间), 并分析每种农药的毒性等级。根据试验的数据分析喷施农药暴露场景下的风险熵值, 并进行生态风险评估。

## 2 结果

### 2.1 8 种新烟碱类杀虫剂对地熊蜂成年工蜂的急性经口毒性

由表 1 结果可知, 通过饲喂法测得的地熊蜂成年工蜂 24 h 的  $\text{LD}_{50}$  值由小到大顺序分别为: 噻虫胺 < 噻虫嗪 < 烯啶虫胺 < 呋虫胺 < 吡虫啉 < 噻虫啉 < 啉虫脒 < 氟吡呋喃酮; 48 h 的  $\text{LD}_{50}$  值由小到大顺序分别为: 噻虫胺 < 噻虫嗪 < 烯啶虫胺 < 呋虫胺 < 吡虫啉 < 噻虫啉 < 啉虫脒 < 氟吡呋喃酮。

地熊蜂工蜂急性经口毒性测定结果为噻虫胺毒性最高,氟吡呋喃酮毒性最低。同时,8 种新烟碱类药剂 24 h 的 LD<sub>50</sub> 值均大于 48 h 的 LD<sub>50</sub> 值。根据我国《化学农药环境安全评价试验准则. 第 10 部分: 蜜蜂急性毒性试验》(袁善奎等, 2014) 中农药对蜜蜂急性毒性分级标准,8 种新烟碱杀虫剂中急性经口毒性除啉虫脒、噻虫啉与氟吡呋喃酮为低毒外,其余 5 种均为高毒。

2.2 8 种新烟碱类杀虫剂对地熊蜂成年工蜂的急性接触毒性

由表 2 结果可知,通过接触法测得的地熊蜂成年工蜂 24 h 的 LD<sub>50</sub> 值由小到大顺序分别为:噻虫

胺<噻虫嗪<呋虫胺<烯啶虫胺<吡虫啉<噻虫啉<啉虫脒<氟吡呋喃酮;48 h 的 LD<sub>50</sub> 值由小到大顺序分别为:噻虫胺<噻虫嗪<呋虫胺<烯啶虫胺<吡虫啉<噻虫啉<啉虫脒<氟吡呋喃酮。与急性经口毒性结果一致,对地熊蜂工蜂急性接触毒性测定结果为噻虫胺毒性最高,氟吡呋喃酮毒性最低,8 种新烟碱类药剂 24 h 的 LD<sub>50</sub> 值均大于 48 h 的 LD<sub>50</sub> 值。同时根据我国《化学农药环境安全评价试验准则. 第 10 部分: 蜜蜂急性毒性试验》(袁善奎等, 2014) 中农药对蜜蜂急性毒性分级标准,8 种新烟碱药剂中急性接触毒性除啉虫脒、噻虫啉与氟吡呋喃酮为低毒外,其余 5 种均为高毒。

表 1 8 种新烟碱类杀虫剂对地熊蜂成年工蜂的急性经口毒性  
Table 1 Acute oral toxicity of eight neonicotinoid insecticides to adult workers of *Bombus terrestris*

供试药剂 Tested insecticides	LD <sub>50</sub> (95% CL) (μg a. i. /bee)		LD <sub>90</sub> (μg a. i. /bee)		毒性等级 Toxicity level
	24 h	48 h	24 h	48 h	
噻虫嗪 Thiamethoxam	0.0625 (0.051 – 0.0759)	0.0532 (0.0368 – 0.0796)	0.1087	0.0975	高毒 High
噻虫胺 Clothianidin	0.0433 (0.0371 – 0.0557)	0.0330 (0.0226 – 0.0576)	0.0751	0.0604	高毒 High
啉虫脒 Acetamiprid	33.6911 (29.9519 – 37.9033)	32.3082 (26.8112 – 38.9347)	50.3778	47.1538	低毒 Low
吡虫啉 Imidacloprid	0.9224 (0.7613 – 1.1241)	0.8274 (0.6140 – 1.0973)	1.5338	1.3527	高毒 High
烯啶虫胺 Nitenpyram	0.0896 (0.0736 – 0.1089)	0.0805 (0.0607 – 0.1064)	0.1684	0.1545	高毒 High
呋虫胺 Dinotefuran	1.5787 (1.1875 – 2.1843)	1.3585 (0.9023 – 2.0953)	3.9574	3.4819	高毒 High
噻虫啉 Thiacloprid	32.9666 (24.4956 – 44.3847)	29.4062 (16.4523 – 52.0517)	56.8186	48.4329	低毒 Low
氟吡呋喃酮 Flupyradifurone	72.4119 (58.8997 – 89.0452)	67.9079 (64.8511 – 71.1100)	92.3898	84.4793	低毒 Low

毒性等级参照根据中华人民共和国《化学农药环境安全评价试验准则. 第 10 部分: 蜜蜂急性毒性试验》(袁善奎等, 2014) 中农药对蜜蜂急性毒性分级标准 The toxicity level is based on the grading standard of the acute toxicity of pesticides to bees in Environmental Safety Assessment Test Criteria for Chemical Pesticides – Part 10: Acute Toxicity Test for Bees (Yuan *et al.*, 2014). 低毒 Low toxicity; LD<sub>50</sub> > 11.0 μg a. i. /bee; 中毒 Moderate toxicity; 2.0 μg a. i. /bee < LD<sub>50</sub> ≤ 11.0 μg a. i. /bee; 高毒 High toxicity; 0.001 μg a. i. /bee < LD<sub>50</sub> ≤ 2.0 μg a. i. /bee; 剧毒 Extremely high toxicity; LD<sub>50</sub> ≤ 0.001 μg a. i. /bee). 表 2 同 The same for Table 2.

表 2 8 种新烟碱类杀虫剂对地熊蜂成年工蜂的急性接触毒性  
Table 2 Acute contact toxicity of eight neonicotinoid insecticides to adult workers of *Bombus terrestris*

供试药剂 Tested insecticides	LD <sub>50</sub> (95% CL) (μg a. i. /bee)		LD <sub>90</sub> (μg a. i. /bee)		毒性等级 Toxicity level
	24 h	48 h	24 h	48 h	
噻虫嗪 Thiamethoxam	0.0236 (0.0089 – 0.0615)	0.0196 (0.0090 – 0.0572)	0.0402	0.0384	高毒 High
噻虫胺 Clothianidin	0.0220 (0.0115 – 0.0425)	0.0192 (0.0003 – 1.1418)	0.0381	0.0369	高毒 High
啉虫脒 Acetamiprid	23.4279 (9.8064 – 54.9145)	22.7473 (8.9368 – 56.3994)	42.1871	39.7739	低毒 Low
吡虫啉 Imidacloprid	1.1114 (0.7984 – 1.5209)	1.0541 (0.5569 – 2.0252)	1.7654	2.1214	高毒 High
烯啶虫胺 Nitenpyram	0.5882 (0.2424 – 1.3260)	0.5613 (0.1568 – 1.5141)	1.2461	1.1778	高毒 High
呋虫胺 Dinotefuran	0.2104 (0.0524 – 0.6549)	0.2021 (0.0505 – 0.6065)	0.3623	0.3490	高毒 High
噻虫啉 Thiacloprid	17.2192 (9.3852 – 32.7417)	16.0839 (8.1951 – 31.9108)	36.4051	42.5625	低毒 Low
氟吡呋喃酮 Flupyradifurone	141.7641 (105.3503 – 190.7139)	130.3062 (64.8621 – 260.6748)	237.6715	213.1210	低毒 Low

2.3 8 种新烟碱类杀虫剂对地熊蜂成年工蜂的生态风险评估

通过饲喂法和接触法测得的 48 h 的 LD<sub>50</sub> 值计算得到 8 种新烟碱类杀虫剂对地熊蜂成年工蜂的危害熵值(HQ)。8 种供试制剂中,啉虫脒、噻虫啉和

氟吡呋喃酮的经口与接触危害熵值均小于 50,为低风险;吡虫啉、烯啶虫胺、呋虫胺的经口与接触危害熵值均大于 50 小于 2 500,为中等风险;而噻虫嗪与噻虫胺的接触危害熵值均大于 2 500,为高风险,但经口危害熵值则在 50 ~ 2 500 之间,为中等风险(表 3)。

表 3 8 种新烟碱杀虫剂对地熊蜂成年工蜂的危害熵值

Table 3 Hazard quotient values of eight neonicotinoid insecticides to adult workers of *Bombus terrestris*

供试药剂 Tested insecticides	AR (g a. i. /hm <sup>2</sup> )	LD <sub>50</sub> (mg a. i. /bee)		危害熵值 HQ value		风险评估 Risk assessment	
		经口 Oral	接触 Contact	经口 Oral	接触 Contact	经口 Oral	接触 Contact
噻虫嗪 Thiamethoxam	75	0.0532	0.0196	1 353.88	3 826.53	中等风险 Moderate	高风险 High
噻虫胺 Clothianjdin	72	0.033	0.0192	2 181.82	3 750.00	中等风险 Moderate	高风险 High
啉虫脒 Acetamiprid	29.99	32.3082	22.7473	0.92	1.32	低风险 Low	低风险 Low
吡虫啉 Imidacloprid	63	0.8274	1.0541	76.14	59.77	中等风险 Moderate	中等风险 Moderate
烯啶虫胺 Nitenpyram	29.99	0.0805	0.5613	372.55	53.43	中等风险 Moderate	中等风险 Moderate
呋虫胺 Dinotefuran	150	1.3585	0.2021	110.42	742.21	中等风险 Moderate	中等风险 Moderate
噻虫啉 Thiacloprid	9	29.4062	160.0839	0.31	0.56	低风险 Low	低风险 Low
氟吡呋喃酮 Flupyradifurone	102	67.9079	130.3062	1.5	0.78	低风险 Low	低风险 Low

AR：推荐的农药单次最高施用量 Recommended application rate of a pesticide. 杀虫剂对地熊蜂工蜂的风险评估参照欧洲和地中海植物保护组织 (EPPO, 2000) 所采用的 HQ 值。HQ 值为农药田间推荐用量与农药对地熊蜂工蜂急性经口或接触 LD<sub>50</sub> 值的比值。The risk assessment of insecticides to the workers of *B. terrestris* refers to the HQ values used by the European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO, 2000). HQ value is the ratio of the field recommended dose to the LD<sub>50</sub> value by oral or direct contact exposure. 高风险 High risk; HQ > 2 500; 中等风险 Moderate risk; 50 < HQ ≤ 2 500; 低风险 Low risk; HQ ≤ 50.

3 结论与讨论

本试验分别采用了饲喂法和接触法对地熊蜂成年工蜂进行了室内毒力测定,从测定结果来看,所选 8 种新烟碱类杀虫剂,无论采用饲喂法还是接触法,对地熊蜂成年工蜂的测定结果一致,除啉虫脒、噻虫啉与氟吡呋喃酮为低毒外,其余药剂均为高毒(表 1 和 2)。这表明绝大多数新烟碱类杀虫剂对非靶标生物地熊蜂存在严重影响。同时,测定结果显示噻虫胺的毒性最高,氟吡呋喃酮的毒性最低。基于以上试验结果,我们推断出新烟碱类杀虫剂的作用机理类似,均具有胃毒、触杀、内吸和渗透作用,作用原理也均与乙酰胆碱受体类似,但由于化学结构不同,乙酰胆碱亚基组成不同等原因,最终导致其毒性存在一定差异(袁锐等, 2018)。有研究表明,啉虫脒对蜜蜂的毒性为中毒(季守民等, 2015),这可能与熊蜂体积比蜜蜂大,造成敏感性更小的原因,但同为体型较小的凹唇壁蜂 *Osmia excavata* 对啉虫脒则表现出更高的敏感性(袁锐等, 2018),因此,具体产生不同的原因还有待进一步研究。

此外,本试验风险评估采用的是欧洲标准危害熵值(HQ)来判断风险的高低,而我国风险评估程序则是参照 NY/T2882.4-2016《农药登记环境风险评估指南. 第 4 部分: 蜜蜂》(中华人民共和国农业部, 2016)来进行风险的评估。本试验根据我国风险评估标准,根据农药使用方法确定对蜜蜂暴露的可能性,当根据使用方法不能排除蜜蜂受到农药的

暴露时,应根据可能的暴露途径,在相应的暴露场景下进行风险评估。本试验所选农药直接喷施于作物,所以针对喷施场景进行风险评估。

初级风险表征用喷施农药暴露场景的风险熵值(risk entropy value, RQsp)来评估每种化学农药的影响。喷施场景下 RQsp 为  $RQ_{sp} = AR / (LD_{50} \times 50)$  其中 AR 是推荐的农药单次最高施用量,单位是 g a. i. /hm<sup>2</sup> 或 g 农药制剂/hm<sup>2</sup>, LD<sub>50</sub> 为经口和接触的蜜蜂的半致死剂量,单位为 μg a. i. /bee 或 μg 农药制剂/蜂。根据中国的实际情况,《农药登记环境风险评估指南. 第 4 部分: 蜜蜂》规定,若 RQsp ≤ 1 时,风险可接受;当 RQsp > 1 时,风险不可接受,可进行高级风险评估。由此公式可以算出在喷施场景下 8 种新烟碱类杀虫剂的风险熵值(RQsp),其中啉虫脒、噻虫啉和氟吡呋喃酮风险均为可接受,而其余 5 种药剂均为不可接受。对照本试验采用的欧洲标准,我们可以得出结论,在欧洲风险评估标准中低风险在我国风险评估标准中为可接受,而中等风险和高风险则均为不可接受。通过表 3 的结果表明,噻虫嗪与噻虫胺对地熊蜂成年工蜂的经口毒性为中等风险,而接触毒性为高风险,分析原因,可能是由于两种药剂触杀能力大于胃毒能力,因此对哺乳动物较为安全,而对于熊蜂的授粉昆虫的危害较大。而其他 6 种药剂的风险一致,但具体的 HQ 值大小上也存在不同,说明饲喂法和接触法两种方法进行急性毒性测定时结果存在差异,为保证试验的准确性两种方法应该同时进行。

虽然设施农业上使用熊蜂授粉主要集中在花

期,但由于新烟碱类杀虫剂的强内吸性,使得不同发育时期施用也会对熊蜂授粉产生一定影响。有研究表明,新烟碱类杀虫剂,如噻虫嗪、吡虫啉等在花粉中有残留,会对地熊蜂授粉和发育情况存在潜在影响(Kunz *et al.*, 2015)。由于其在植物体内传导机制尚未明确,已知同为蜜蜂科的意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* 受新烟碱类杀虫剂影响较大,不宜使用。因此,根据本试验研究结果和参考他人研究结果后,在深入研究总结出其对熊蜂毒性和作用机制之前,尽量不使用新烟碱类杀虫剂防治设施农业害虫。此外,啉虫脒、噻虫啉和氟吡呋喃酮的毒性测定虽为低毒,风险评估亦为低风险,但田间实际生产应用仍需进一步做大田试验验证后方可下定论。氟吡呋喃酮是拜耳公司在欧盟禁用部分新烟碱类杀虫剂来防止对蜜蜂危害时研究推出的新烟碱类杀虫剂,在我国登记时间较短,因而对我国蜜蜂、熊蜂、壁蜂等授粉昆虫的影响需要进一步试验研究验证。

目前,关于授粉昆虫的研究大部分集中在意大利蜜蜂,而对于熊蜂的研究较少(黄家兴和安建东, 2018)。有研究表明,大部分新烟碱类杀虫剂对熊蜂的急性毒性较高,但后续的应用问题还需要进一步研究解决。如 Stanley 等(2015)指出,长期接触新烟碱类杀虫剂会损害熊蜂的记忆学习能力;Harrap 等(2019)研究表明,熊蜂善于学习区分有图案的花朵,除了视觉模式外,它们还能区分那些只在气味、表面纹理、温度或静电荷模式上不同的花朵,经训练的熊蜂可在不同的感官模式间传递所学的模式而不需要重新学习。Farooqui (2013)研究发现,由于不合理使用新烟碱类农药使得蜜蜂等授粉昆虫寿命缩短,筑巢、取食等行为发生改变,成为蜂群崩溃综合征(colony collapse disorder, CCD)的主要诱因;CCD 研究小组调查了百余种病蜂种群样本,也认为新烟碱药剂具有重大嫌疑(Stokstad, 2007)。此外,由于土地管理的变化导致花卉资源的损失通常被认为是传粉昆虫下降的主要原因,这是因为传粉昆虫如熊蜂等需要依靠丰富的花卉资源和多样化的选择来满足它们的能量需求(Rotheray, 2017)。虽然新烟碱类杀虫剂对蜜蜂等授粉昆虫的亚致死效应研究不断深入(Henry *et al.*, 2012; 蔺哲广等, 2014),但新烟碱类杀虫剂对熊蜂的慢性毒性以及亚致死效应仍需进一步探究。另外,本研究在药剂选择方面选用了商业制剂,但由于制剂在组成成份、含量、剂型、溶解性上存在一定差异,可能会对毒力测定结果产生一定影响。同时目前仅研究了室内急性毒性试验,而

田间实际施药对地熊蜂的影响还需进一步试验验证。当下国内外的蜜蜂、熊蜂等授粉昆虫急性毒性测试技术已经很完善,但慢性毒性测试技术仍处于探究摸索阶段。今后应关注其长远发展,并对新烟碱类杀虫剂的长期慢性毒性开展风险评估。

## 参考文献 (References)

- Codling G, Naggat YA, Giesy JP, Robertson AJ, 2018. Neonicotinoid insecticides in pollen, honey and adult bees in colonies of the European honey bee (*Apis mellifera* L.) in Egypt. *Ecotoxicology*, 27(2): 122–131.
- EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR), 2012. Scientific opinion on the science behind the development of a risk assessment of plant protection products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees). *EFSA J.*, 10(5): 2668.
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), 2000. Guidelines for the efficacy evaluation of plant protection products. PP1/170(4): Side effects on honeybees. *IOBC/WPRS Bull.*, 23: 51–55.
- Farooqui T, 2013. A potential link among biogenic amines-based pesticides, learning and memory, and colony collapse disorder; a unique hypothesis. *Neurochem. Int.*, 62(1): 122–136.
- Harrap MJM, Lawson DA, Whitney HM, Rands SA, 2019. Cross-modal transfer in visual and nonvisual cues in bumblebees. *J. Comp. Physiol. A Neuroethol. Sens. Neural Behav. Physiol.*, 205: 427–437.
- Henry M, Béguin M, Requier F, Rollin O, Odoux JF, Aupinel P, Aptel J, Tchamitchian S, Decourtye A, 2012. A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. *Science*, 336(6079): 348–350.
- Huang JX, An JD, 2018. Species diversity, pollination application and strategy for conservation of the bumblebees of China. *Biodiv. Sci.*, 26(5): 486–497. [黄家兴, 安建东, 2018. 中国熊蜂多样性、人工利用与保护策略. 生物多样性, 26(5): 486–497]
- Huang JX, An JD, Wu J, Guo ZB, 2007. Advantage of bumblebee as pollinator for *Solanum* in greenhouse. *Chin. Agric. Sci. Bull.*, (3): 5–9. [黄家兴, 安建东, 吴杰, 国占宝, 2007. 熊蜂为温室茄属作物授粉的优越性. 中国农学通报, (3): 5–9]
- Ji SM, Cheng CY, Yuan CW, Zhou XL, Jiang XY, 2015. Acute toxicity and risk assessment of seven neonicotinoid insecticides on honeybees. *Agrochemicals*, 54(4): 282–285. [季守民, 程传英, 袁传卫, 周秀玲, 姜兴印, 2015. 7 种新烟碱类杀虫剂对意大利蜜蜂的急性毒性及风险评价. 农药, 54(4): 282–285]
- Kunz N, Frommberger M, Dietzsch AC, Wirtz IP, Stähler M, Frey E, Illies I, Dyrba W, Alkassab A, Pistorius J, 2015. Neonicotinoids and bees: a large scale field study investigating residues and effects on honeybees, bumblebees and solitary bees in oilseed rape grown from clothianidin-treated seed. *Julius-Kühn-Archiv*, 450: 155–158.
- Lin ZG, Meng F, Zheng HQ, Hu FL, 2014. Effects of neonicotinoid

insecticides on bee health. *Acta Entomol. Sin.*, 57(5): 607–615.

[ 蒯哲广, 孟飞, 郑火青, 胡福良, 2014. 新烟碱类杀虫剂对蜜蜂健康的影响. *昆虫学报*, 57(5): 607–615 ]

Millar NS, Denholm I, 2007. Nicotinic acetylcholine receptors: targets for commercially important insecticides. *Invert. Neurosci.*, 7(1): 53–66.

Rotheray EL, Osborne JL, Goulson D, 2017. Quantifying the food requirements and effects of food stress on bumble bee colony development. *J. Apicult. Res.*, 56(3): 288–299.

Simon-Delso N, Amaral-Rogers V, Belzunces LP, Bonmatin JM, Chagnon M, Downs C, Furlan L, Gibbons DW, Giorio C, Girolami V, Goulson D, Kreutzweiser DP, Krupke CH, Liess M, Long E, McField M, Mineau P, Mitchell EA, Morrissey CA, Noome DA, Pisa L, Settele J, Stark JD, Tapparo A, Van Dyck H, Van Praagh J, Van der Sluijs JP, Whitehorn PR, Wiemers M, 2015. Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, 22(1): 5–34.

Stanley DA, Smith KE, Raine NE, 2015. Bumblebee learning and memory is impaired by chronic exposure to a neonicotinoid pesticide. *Sci. Rep.*, 5(1): 16508.

Stokstad E, 2007. The case of the empty hives. *Science*, 316(5827): 970–972.

Tomizawa M, Casida JE, 2003. Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. *Annu. Rev. Entomol.*, 48: 339–364.

Trillo A, Brown MJ, Vilà M, 2019. Prevalence of *Nosema microsporidians* in commercial bumblebees (*Bombus terrestris*) is not related to the intensity of their use at the landscape scale. *Apidologie*, 50(2): 234–242.

Wang H, Xu XL, 2019. Toxicity and risk of spinetoram and bifentazate to bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Acta Entomol. Sin.*, 62(3): 334–342. [ 王欢, 徐希莲, 2019. 乙基多杀菌素和联苯肼酯对地熊蜂的毒性及风险评估. *昆虫学报*, 62(3): 334–342 ]

Yuan R, Li LL, Li C, Xia XJ, Zheng L, Yu Y, Men XY, 2018. Toxicity and hazard assessment of six neonicotinoid insecticides on *Osmia excavata* (Hymenoptera: Megachilidae). *Acta Entomol. Sin.*, 61(8): 950–956. [ 袁锐, 李丽莉, 李超, 夏小菊, 郑礼, 于毅, 门兴元, 2018. 六种新烟碱类杀虫剂对凹唇壁蜂的毒性及风险评估. *昆虫学报*, 61(8): 950–956 ]

Yuan SK, Xu H, Qu WG, Shan ZJ, Bu YQ, Yan QP, Wang HL, 2014. GB/T31270.10-2014. Environmental Safety Assessment Test Criteria for Chemical Pesticides. Part 10: Acute Toxicity Test for Bees. China Standard Press, Beijing. [ 袁善奎, 徐晖, 瞿唯钢, 单正军, 卜元卿, 严清平, 王会利, 2014. GB/T31270.10-2014. 化学农药环境安全评价试验准则. 第10部分: 蜜蜂急性毒性试验. 北京: 中国标准出版社 ]

Zhao YN, Gao JL, Wang YJ, Liu JF, Zhao DX, 2014. Acute toxicity and hazard assessment of neonicotinoid pesticides on *Apis cerana hainana*. *Agrochemicals*, 53(3): 206–209. [ 赵怡楠, 高景林, 王玉洁, 刘俊峰, 赵冬香, 2014. 新烟碱类农药对海南中蜂的急性毒性测定及风险评估. *农药*, 53(3): 206–209 ]

Zhou H, Zhai YF, Hu ZZ, Wu GA, Shao XN, Dai XY, Yu Y, Zheng L, 2016. Determination of the virulence of commonly used insecticides on the bumblebee in seven greenhouse facilities. *Shandong Agric. Sci.*, 48(2): 98–100. [ 周浩, 翟一凡, 胡泽章, 吴光安, 邵莒南, 代小彦, 于毅, 郑礼, 2016. 7种温室设施常用杀虫剂对地熊蜂的毒力测定. *山东农业科学*, 48(2): 98–100 ]

(责任编辑: 赵利辉)